Münster.1933.№/ Med Diss.

Aus dem hygienischen Institut der
Westf. Wilhelms-Universität, Münster i. W.
(Direktor: Professor Dr. K. W. Jötten.)

Untersuchungen über biologische Eigenarten verschiedener Streptokokkenarten,

ein Beitrag zur Frage der Identität des Streptokokkus lacticus und Enterokokkus.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der

Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät

der

Westf. Wilhelms-Universität in Münster i. Westf.

Vorgelegt von

Paul Asshoff
Medizinalpraktikant
aus Werl i./Westf.

1932
Druck von W. & K. Sauerland, Unna

Gedruckt mit Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Münster.
Dezember 1931.

Dekan: Professor Dr. A. v. Szily.
Referent: Professor Dr. K. W. Jötten.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern in dankbarer Verehrung gewidmet!

Das so häufige Vorkommen von Streptokokken als anscheinend harmlose Saprophyten auf der Haut und den Schleimhäuten, und die Fähigkeit morphologisch und kulturell sich ganz ähnlich verhaltender Streptokokken als Eiter- und Nekrose- oder gar als Septikamieerreger wirken zu können, fordern eine strenge Unterscheidung der krank machenden und nicht krank machenden Streptokokken. Von der Gruppe der Eiterstreptokokken wurden eine Reihe von Streptokokkenarten abgetrennt, denen man keine oder schwach pathogene Eigenschaften zuzusprechen geneigt war. Wegen der großen Ähnlichkeit des schon von Günther und Thierfelder in sauer gewordener Milch gefundenen Streptokokkus, den W. Kruse als Streptokokkus lacticus bezeichnete, mit Viridansstreptokokken, Pneumokokken und Darmstreptokokken, war es nicht von der Hand zu weisen, daß derartige mit derMilch in den tierischen Organismus gelangte Keime als Krankheitserreger in Frage kommen können.

1860 beschrieb Escherich einen Diplokokkus, den er im Säuglingsdarm gefunden hatte und den er Mikrokokkus ovalis nannte. Pathogene Bedeutung legte er diesem Kokkus nicht bei. Später beschrieb Escherich einen Diplokokkus im Darm, der dem Pneumokokkus sehr ähnlich sah. Er glaubt, daß sein Vorkommen nicht allein auf den Darm beschränkt sei, sondern daß auf den Schleimhäuten insbesondere der Mund- und Rachenschleimhaut gleiche Kokken zu finden wären. Ferner erwähnt er, daß ganz ähnliche in der Milch vorkämen. Er hielt diesen Diplokokkus für eine pathogene Abart der Milchsäurestreptokokken und schrieb ihm hohe Bedeutung bei den Darmerkrankungen des Säuglings zu. Dann wiesen Hirsch und Libmann auf einen Streptokokkus enteritidis hin, den sie bei Säuglingsenteritiden gezüchtet hatten. Auch sie glaubten, daß dieser Streptokokkus bei den kindlichen Darmerkrankungen eine große Rolle spiele. In Frankreich beschrieb Thiercelin 1899 einen Diplokokkus. Auch er hatte ihn aus dem Stuhl an Darmkatarrh erkrankter Säuglinge gezüchtet. Aber er stellte bald fest, daß er auch im normalen Darm vorkommt und gab ihm daher den Namen Enterokokkus. Endlich erwähnten die Engländer Andrewes und Horder 1906 noch einen Streptokokkus faecalis, so benannt, weil sie ihn hauptsächlich aus dem Stuhl gezüchtet hatten. Bei allen diesen Bacterienarten handelt es sich um ein und dasselbe und so hat sich in der ausländischen Literatur, wohl aus dem Grunde, weil, wie schon oben erwähnt, Thiercelin richtig erkannte, daß dieser Kokkus auch im normalen Darm vorkommt, der Name Enterokokkus durchgesetzt.

Schottmüller wies 1903 auf einen Streptokokkus hin, den er vom gewöhnlichen Eiterstreptokokkus abtrennte. Er fand bei ihm ein

schlechtes Wachstum auf den gewöhnlichen Nährboden. Die Tierpathogenität war äußerstI gering. Er konnte weiße Mäuse nur zum Absterben bringen, wenn er zweimal eine Aufschwemmung dicht besäter Agarplatten injicierte. Als besonderes Charakteristikum beschrieb er ein vergrünendes Wachstum auf der Blutplatte und nannte ihn infolgedessen Streptokokkus viridans. Schottmüller ging hierbei aber soweit, daß er sämtliche vergrünend wachsende Streptokokken als Viridansstreptokokken bezeichnete. So nannte er die Rachenstreptokokken und die vergrünenden Kokken des Darmtraktus und der Gallenwege alle Viridansstreptokokken. Kruse und seine Schüler traten dieser Meinung energisch entgegen. Sie wollten nur für die Streptokokken den Namen Viridans gelten lassen, die der Kliniker als der Erreger der Endokarditis lenta kennt. Die Krusesche Schule identifiziert den Rachenstreptokokkus mit dem Streptokokkus lacticus und gibt ihm auch diesen Namen.

Auch von den Enterokokken sagt Kruse schon 1903 in seiner Arbeit über den Streptokokkus lacticus, daß es nicht vorteilhaft wäre, infolge kleiner Varietäten, die er ja auch bei den Milchsäurestreptokokken gefunden hat, die Darmstreptokokken eigens zu benennen. Er behauptet, daß sie ebenfalls identisch seien oder zum mindesten nahestens verwandt mit den Milchsäurestreptokokken. Daher schlägt er für alle diese Kokken den den gemeinsamen Namen Streptokokkus lacticus vor. In der Tat konnten Hölling und Sperling nachweisen, daß ihr chemisches Verhalten ein gleiches ist. Hölling stellte fest, daß sowohl der Enterokokkus als auch der Pneumokokkus Rechtsmilchsäure bilden. Das gleiche konnte Sperling von 6 der Prüfung unterzogenen Rechenstreptokokken nachweisen. Auf die Verwandschaft der Pneumokokken mit den Milchsäurestreptokokken hat Kruse auch in der oben erwähnten Arbeit über den Streptokokkus hingewiesen. In Deutschland hat man den Enterokokkus auch immer mit dem Streptokokkus lacticus identifiziert, während er seit langem im Auslande, besonders in Frankreich, als eigener Typus aufgeführt wurde. In neuester Zeit haben sich bei uns einige Bacteriologen, unter ihnen besonders Schmitz und Kurt Meyer für die Abtrennung des Enterokokkus von dem Streptokokkus lacticus ausgesprochen. Für den Enterokokkus wurden viele Spezialnährböden und Charakteristica angegeben. Hiermit prüfte man die oben erwähnten Streptokokkentypen.

Schmitz, der in Deutschland vor allem zuerst die Aufmerksamkeit auf den Enterokokkus gelenkt hat, hebt vor allem die Polymorphie der einzelnen Kulturen hervor.

Der englische Bacteriologe Logan beschrieb 1913 einen Darmkokkus, den er für identisch mit dem Thiercelinschen Enterokokkus hielt, und fand als besonderes Charakteristicum einen gramfesten Diplokokkus, der auf der Blutplatte in zarten Kolonien wuchs und in der Bouillon eine diffuse Trübung mit dichtem Bodensatz hervorrief.

Eine sehr wichtige Probe gaben zuerst Houston und Mc. Cloy an. Ihre Kulturen vertrugen eine Erwärmung von 55° 1½ Stunde lang. Sie halten die Thermostabilität für eine besondere Eigenart der Enterokokken. Dible fand, daß unter 137 Enterokokkenstämmen 85 eine Erwärmung auf 60° eine halbe Stunde aushielten. Bagger erhitzte ebenfalls auf 60° und setzte

seine Kulturen eine Stunde lang dieser Temperatur aus. 95,33 % der Enterokokkenstämme blieben bei dieser Temperatur am Leben. Die andern Streptokokkentypen wurden sämtlich bei dieser Thermoresistenzprüfung abgetötet. Eine andere Besonderheit der Enterokokken beschrieb Weissenbach. Er fand, daß der Enterokokkus in Gallepeptonwasser im Gegensatz zu anderen Streptokokkenarten ein üppiges Wachstum zeigt. Er gab hierfür einen besonderen Nährboden an, der aus 4 % Peptonwasser mit einem Zusatz von 0,2 % Glucose und 10 % Galle besteht. Die Galle muß vorher auf einen Trockengehalt von 10,2 % gebracht sein. Diese Probe wurde vielfach modificiert. So prüften Morin, Caudiére und Certonciny in der Weise, daß sie zu 5 ccm einer 24 stündigen Bouillonkultur 0,1 ccm Galle fügten und nach 24 stündiger Bebrütung abimpften. Bagger benutzte Rindergalle mit 1 % Peptonzusatz. Von 48 hämolytischen und 10 anhämolytischen Streptokokken lebten nur 2 nach 48 Stunden. Die Enterokokken zeigten sämtlich Wachstum und Vermehrung. Kwasniewsky und Henning prüften mit taurocholsaurem Natrium. Die Enterokokken wuchsen in einer Konzentration von 1 : 10. Die Streptokokken waren schon in einer Verdünnung von 1 : 20 abgetötet.

Von Harrison und Vanderleck wurde das Aeskulin in die bacteriologische Diagnostik eingeführt. Sie glaubten das Aeskulinspaltungsvermögen als Charakteristicum der Colibazillen ansprechen zu dürfen und empfahlen Aeskulinnährböden zür Züchtigung der Colibazillen. Das Wesentliche dieser Nährböden ist, daß sie neben dem Aeskulin ein Eisenoxydsalz enthalten, das mit dem bei der Spaltung des Aeskulins frei werdenden Aeskuletin eine tiefschwarze, gefärbte Verbindung eingeht (citiert nach Kurt Meyer und H. Schönfeld). Rochaix stellte später fest, daß die Aeskulinprobe bei den Colibazillen gar nicht konstant und auch nicht auf sie beschränkt ist., Bei den Enterokokken fand er sie dagegen immer. Der Rachenstreptokokkus zeigte nur hin und wieder eine positive Aeskulinprobe. Diese Probe hält Kurt Meyer für die wichtigste Identifizierung der Enterokokken. Der von Harrison und Vanderleck angegebene Aeskulinnährboden bestand aus 100 ccm H_2O 1,5 % Pepton, 0,5 g Na. taurocholicum, 0,5 g Aeskulin und 0,05 g Ferricitrat. Meyer sah bei diesen Nährböden ein nur kümmerliches Wachstum der Viridansstämme. Er schob dieses auf einen zu geringen Nährstoffgehalt des Nährbodens. Deshalb gebrauchte er, um ein objektives Urteil zu haben, gewöhnliche Bouillon, die mit 0,2 % Aeskulin versetzt wurde. Dieser wurde nach 24 Stunden bezw. 48 stündiger Bebrütung ein Tropfen Eisencitratlösung zugesetzt.

Kurz zusammenfassend zeichnet sich nach diesen Autoren der Enterokokkus durch folgende Eigenschaften aus:

1.) durch große Polymorphie,
2.) durch ovale Diploform,
3.) durch diffuse Trübung der Bouillon,
4.) durch Thermoresistenz,
5.) durch Galleresistenz,
6.) durch die Fähigkeit, das Glykosit-Aeskulin zu spalten,
7.) sah Herta Schönfeld meistens grauweiße Eigenfarbe der Kolonien und schwarzgrüne Verfärbung der Blutplatte.

Auf deutscher Seite waren es vor allem die oben erwähnten Schmitz und Meyer, sowie dessen Schüler, ferner Gundel, Bitter und Buchholz, Grossmann, Wirth, die nicht pyogene Kokken untersucht haben. Schmitz hebt vor allem, wie schon eingangs erwähnt, die Polymorphie der Kulturen hervor und hält sie für eine „spezifische diagnostisch wohl verwertbare Eigentümlichkeit" der Enterokokken. Er beobachtete bei allen seinen Stämmen, daß Größe, Gestalt und Anordnung wechselten nach der Art des Nährbodens und nach dem Alter der Kulturen. So fand er bei festen Nährböden hauptsächlich Diploform der Kokken, bei flüssigen Kettenform. Die Bouillon war nach 24 Stunden gleichmäßig getrübt, nach 48 Stunden bildete sich am Boden eine „schleimige, fadenziehende Masse, die beim Schütteln als ein zusammenhängender Faden in die Höhe stieg." Bei seinen Streptokokkenstämmen hob sich der Bodensatz krümelig empor.

Kurt Meyer und seine Schüler legten bei ihren Untersuchungen besonderen Wert auf die Thermostabilität, Galleresistenz und vor allem auf die Aeskulinprobe.

Herta Schönfeld untersuchte 60 Enterokokkenstämme und fand bei 48 (80 %) Schwärzung des Aeskulinnährbodens. Von den übrigen Stämmen, die nicht die Probe ergeben hatten, zeigten 7 nach einigen Wochen ebenfalls Schwärzung, die anderen 5 waren eingegangen. In 20 % Gallepeptonwasser wuchsen alle Enterokokkenstämme üppig. Von den 60 Kulturen ertrugen 39 (65 %) 1/2 Stunde eine Erhitzung auf 60°, 14 waren schon bei 1/4 stündlicher Erhitzung abgetötet.

Kurt Meyer berichtet von 82 Rachenstreptokokkenstämmen, von denen 6 (7,3 %) Aeskulin spalteten. Thermoresistent war nur einer. Obschon dieser Stamm auch die Aeskulinprobe ergab, will ihn Kurt Meyer nicht zu den Enterokokken rechnen, da er die Bouillon klar ließ und sehr hinfällig war, sodaß die Gallenepfindlichkeit nicht geprüft wurde. Von 44 Rachenstreptokokkenstämmen vermehrten sich 9 (20,5 %) in 20 %, 13 (29,5 %) in 10 % Gallepeptonwasser, 2 Stämme blieben am Leben, vermehrten sich aber nicht, während 29 (68,2 %) innerhalb 24 Stunden abgetötet wurden. Von 66 aus der sauren Milch gezüchteten Milchsäurestreptokokken ergaben 28 die Aeskulinprobe. In 20 % Gallepeptonwasser vermehrten sich von 25 Stämmen 19. 6 Stämme wurden gehemmt, aber keiner abgetötet. Thermoresistent waren von 66 Stämmen 35.

Diese letzten Proben der Milchsäurestreptokokken scheinen, wie Kurt Meyer selber sagt, die Spezifität der Enterokokken zu erschüttern. Er will den Milchsäurestreptokokken jedoch keine volle Identität mit den Enterokokken zuerkennen. Er teilt die Milchsäurestreptokokken in 2 Arten ein, in eine, die den Rachenstreptokokken ähnelt, und in eine andere, die dem Enterokokkus ähnelt. Diese Einteilung in mehrere Typen ist auch von anderen Autoren schon unternommen worden. So berichtet Wirth in seiner Arbeit: „Zur Kenntnis der Streptokokken" von einem Typus a und b. Bitter und Buchholz berichten von 2 bezw. 4 verschiedenen Typen und Gundel bestätigt dieses. Bitter und Buchholz zogen zur Differenzierung dieser Arten von Milchstreptokokken Ziegenblutagar und Chinablauagar heran. Typ 1 wuchs auf Ziegenblutagar als große, kuppelförmige, staphylokokkenartige Kolonie mit starker Vergrünung und schwärzlicher Verfärbung des Nährbodens. Typ 2 wuchs als kleinere Kolonie mit

starker Vergrünung und Aufhellung. Die Kolonie an sich war mehr oder minder weiß. Typ 3 erwies sich als große, runde, tautropfenartige Kolonie mit ausgesprochener Vergrünung und Aufhellung. Mit Chinablauagar differenzierten Bitter und Buchholz noch einen Typ 2a und 2b. Typ 2a war eine kleine, spitze, tiefblaue, festhaftende Kolonie. Typ 2b war eine kuppelförmige, tiefblaue, festhaftende Kolonie.

Vergleicht man die morphologische Beschreibung des Enterokokkus in der Literatur, so fällt einem auf, daß jeder dieser Typen der Milchsäurestreptokokken als Enterokokkus beschrieben ist. Schmitz zieht den Enterokokkus als staphylokokkenartige Kolonie. Meyer beschreibt ihn als kleine, spitze, teils tautropfenartige Kolonie. Gundel sah bei seinen aus Urin gezüchteten Enterokokken teils staphylokokkenartige teils mittelgroße Kolonien mit weißlichem Zentrum.

Gundel glaubt auf Grund dieser Typeneinteilung einen Beweis dafür zu haben, daß der Milchsäurestreptokokkus mit dem Streptokokkus lacticus identisch ist. Zum Beweise für obige Annahme säte er einen Rachenstreptokokkus Typ 2 in Urin ein und sah, wie der Kokkus am dritten Tage flacher wuchs, um am achten Tage dem Typus 1 vollständig zu gleichen. Bei Fütterungsversuchen mit 2b-Typen konnte er immer nur Kokken wieder herauszüchten, die zwischen dem Typus 2a und 1 standen. Als weiteren Beweis für die Identität führt er an, daß beide starke Säurebildner sind und daß nach seinen Befunden auch eine große Anzahl der Enterokokken die Milch zur Gerinnung bringt, während dieses Kurt Meyer niemals gesehen haben will.

Bei einer großen Anzahl aus Urin gezüchteter Enterokokken war eine Angina oder Bronchopneumonie vorausgegangen. Krankheitserscheinungen an der Blase oder am Nierenbecken lagen nicht vor. Gundel folgert hieraus, daß es sich um Milchsäurestreptokokken handelt, die in die Blutbahn gelangt und dann in der Blase bezw. im Nierenbecken aufgetreten sind.

Gleiche Resultate wie Gundel zeitigte Buchholz. Da er im Urin immer nur den Typus 1 fand, auch wenn bei Erkrankungen des uropoetischen Systems, Erkrankungen des Nasenrachenraumes vorangegangen waren, säte er Typus 2b in den Urin ein. Er konnte dann aber immer nur den Typus 1 wieder herauszüchten.

Grossmann untersuchte Streptokokken der verschiedensten Herkunft und stellte 4 Gruppen auf. Die erste Gruppe ergab Hämolyse, wuchs als kleine, spitze Kolonie. Gallenempfindlichkeit war bei allen 22 Stämmen bis auf 2 vorhanden. Die Aeskulinprobe war negativ. 2 Stämme ergaben allerdings bei der zweiten Passage Aeskulinprobe. Bei der zweiten Gruppe anhämolytischer Streptokokken waren ebenfalls 2 Stämme galleristent und aeskulinpositiv. In der dritten Gruppe, die Grossmann als Streptokokkus viridans bezeichnet, waren von 4 Stämmen 2 aeskulinpositiv, 1 galleresistent. Die vierte Gruppe identifiziert er mit dem Enterokokkus. Sie haben die gleichen morphologischen Eigenschaften, sind meistens galleresistent und weisen immer eine positive Aeskulinprobe auf.

Bei einer Untersuchung über die biologischen Beziehungen der einzelnen Streptokokkenarten untereinander sah Grossmann, daß der Ausfall der Aeskulinprobe nicht immer konstant vorhanden war. Er fand bei einem aus dem Tonsillenabstrich gezüchteten an-

hämolytischen Streptokokkus, daß eine vorher negative Aeskulinprobe bei den in besonderen Versuchen gegen Galle resistent gewordenen Streptokokken positiv wurde. Ferner sah er, daß bei 2 hämolytischen Stämmen im Laufe der Weiterzucht die Probe nach der positiven Seite umschlug. Umgekehrt zeigte sich, daß von 3 aus der Galle gezüchteten pathogenen Enterokokkenstämmen einer hämolytisch und dann im Gegensatz zum Ausgangsstamm aeskulinnegativ wurde.

Schließlich kommt Gundel auf Grund zahlreicher Versuche zu dem Schluß, daß eine Grenze zwischen Enterokokken und Milchstreptokokken nicht zu ziehen ist, zumal er in gemeinsamen Studien mit E. Witebsky über Streptokokkenantigenkörper keine Sonderstellung der Enterokokken auf serologischem Wege feststellen konnte. Die Enterokokken stellen nach Gundels Ansicht genau wie die Milchstreptokokken keinen einheitlichen Typus dar. Sie lassen beide 2 Typen erkennen, die in der ganzen Gruppe der pleomorphen Streptokokken nachzuweisen sind. Demgegenüber bleibt aber K. Meyer der Ansicht, daß die Enterokokken des meenschlichen Darms nur ein Typus der Milchstreptokokken sind. Sie mit den Milchstreptokokken zu identifizieren, wie es vielfach geschieht, erscheint Meyer nach wie vor unzulässig.

Eigene Versuche

Durch diese Widersprüche in der Literatur wurde ich veranlaßt, zunächst einmal mit denselben Methoden das Verhältnis der einzelnen Kokkenarten zueinander nachzuprüfen. Ich achtete bei meinen Versuchen wie Kurt Meyer ebenfalls hauptsächlich auf die Galleresistenz, die Thermostabilität und vor allem auf die Aeskulinprobe und gebrauchte auch die Nährböden, die er als die besten veröffentlicht hat.

Ich prüfte das Aeskulinspaltungsvermögen, indem ich 0,2 % Aeskulin enthaltender Bouillon nach 24stündiger Bebrütung einige Tropfen stark verdünnten Eisenchlorids zusetzte.

Die Galleresistenz beobachtete ich, indem ich die Kulturen in Natriumtaurocholicum (in einer Verdünnung von 1 : 10) einimpfte und nach 24stündiger Bebrütung auf Blutplatten brachte.

Bei der Thermoresistenzprobe brachte ich die Kulturen in Glaskapillaren und versenkte sie für eine halbe Stunde in ein Wasserbad von 60°. Dann strich ich sie auf Blutplatten aus.

Von meinen 33 Enterokokkenstämmen waren 30 aus dem Blinddarm und 3 aus dem Urin, 15 Milchsäurestreptokokken waren sämtlich aus saurer bezw. Yoghurtmilch gezüchtet, 39 Rachenstreptokokken sämtlich aus Rachenabstrichen. Ferner prüfte ich einen hämolytischen Streptokokkus, der aus dem Ohrsekret gezüchtet war.

Von den 33 Enterokokkenstämmen war bei 24 Stämmen die Aeskulinprobe, die Galle- und Thermoresistenz gleich nach der Reinzüchtigung bei der ersten Probe stark positiv. 6 Stämme (Nr. 5, 10, 18, 23, 29, 25) ergaben zunächst eine schwache Aeskulinprobe, um nach mehrmaligem Überimpfen auf Blutplatten eine stark positive Probe zu ergeben. 3 Stämme (Nr. 6, 11, 13) waren zunächst aeskulinnegativ, später konnten wir mehrmals eine positive Probe erzielen (s. Tabelle I).

Die Galleresistenzprobe war bei 4 (Nr. 6, 11, 23, 29) positiv, bei 2 Stämmen (Nr. 18 und 25) waren nur spärliche Kolonien gewachsen. 3 Stämme wiesen keine Galleresistenz auf. Bei den 2 Stämmen (Nr. 18 und 25), die bei der Gallerestienzprobe nur spärliches Wachstum zeitigten, war und blieb die Thermoresistenzprobe negativ, Stamm (Nr. 10 und 13), die aeskulinpositiv waren, aber keine Galleresistenz aufwiesen, zeitigten ebenfalls immer negative Thermoresistenzprobe. 2 (Nr. 6 und 29), die nach längerem Züchten auf feuchten Blutplatten positive Aeskulinprobe ergeben hatten, waren immer thermoresistent. Bei 3 anderen (Nr. 5, 11 und 23) wuchsen zunächst nur spärliche Kolonien. Bei später wiederholt vorgenommenen Proben glaubte ich vor allem bei einem der Stämme eine ordentliche Vermehrung der Kolonien feststellen zu können.

Von 39 Rachenstreptokokkenstämmen verhielten sich 21 sowohl bezüglich des Aeskulinspaltungsvermögens als auch bezügl. der Galle- und Thermoredistenz stets negativ (s. Tabelle II). 3 Stämme (Nr. 3, 26, 39) ergaben sogleich positive Aeskulinprobe und waren alle galle- und thermoresistent. 6 Stämme, von denen 3 (Nr. 1, 2, 33) nur eine schwach positive und die andern 3 (Nr. 4, 37, 38) gar keine Aeskulinprobe zeigten, wurden positiv, nachdem sie mit Ferricitratzzusatz nochmals 24 Stunden im Brutschrank gestanden hatten. Bei den anderen 9 Rachenstreptokokkenstämmen (Nr. 5, 6, 9, 15, 16, 23, 27, 31, 36) wurde die Aeskulinprobe nach längerer Weiterzucht auf Blutplatten positiv. Häufig war es auch bei diesen notwendig, die Kultur mit dem Ferricifratzusatz nochmals 24 bezw. 48 Stunden in den Brutschrank zu stellen, um die Aeskulinspaltung in Gang zu bringen. Die übrigen 21 Rachenstreptokokkenstämme waren auch durch längeres Züchten auf feuchten Blutplatten nicht dazu zu bringen, Aeskulin zu spalten. Galleresistenz anzuzüchten war nur in 3 Fällen möglich. Dieses waren die Rachenstreptokokkenstämme (Nr. 1, 2, 33), die gleich anfangs schon eine schwache, positive Aeskulinprobe ergeben hatten. Thermoreesistent wurde kein Stamm.

Die aus der sauren Milch bezw. Yoghurt gezüchteten Milchsäurestreptokokken ergaben, wenn sie schnell isoliert und gleich geprüft wurden, zunächst negative oder nur ganz schwache positive Aeskulinproben (s. Tabelle III). Nach mehrmaligem Überimpfen auf Blutplatten wurden sie bald stark positiv, sieben Nr. 1, 3, 4, 6, 9, 13, 14) schon nach der ersten Überimpfung. Die Stämme, die auch jetzt nur eine schwache Probe ergeben hatten, wurden ebenfalls stark positiv, wenn man sie mit dem Fericitratzusatz nochmals 24 bezw. 48 Stunden in den Brutschrank stellte. Galleresistent waren sogleich 5 Stämme (Nr. 1, 3, 4, 9, 13). Durch allmähliches Gewöhnen an taurocholsaures Natrium gelang es, noch weitere 6 Stämme (Nr. 5, 6, 8, 11, 12, 14) zur Vermehrung zu bringen. Wir verfuhren dabei so, daß wir sie solange auf Blutplatten züchteten und prüften, bis wenigstens einige Kolonien wuchsen. Diese Kolonien wurden dann weiter auf feuchten Blutplatten gezüchtet, bis eine starke Vermehrung auf den Gallenährböden eintrat. 4 Stämme (Nr. 2, 7, 10, 15) ergaben auch weiterhin negative Proben.

Anders verhielt es sich bei der Thermoresistenz. Von 10 Stämmen, die anfangs kein Wachstum zeigten, gelang es mir bei zweien (Nr. 8 und 11) ein sehr spärliches Wachstum auf der

Blutplatte zu erzielen. Diese Stämme zeichneten sich, wie auch die 5, die sogleich positive Proben ergeben hatten, durch dickes, vollsaftiges Wachstum auf der Blutplatte aus.

Da im entzündlichen Gewebe saure Reaktion herrscht und hier kaum der als Enterokokkus beschriebene Bacterientypus von uns angetroffen wurde, da weiterhin die Enterokokken alkalische Nährböden bevorzugten und es möglich war, durch längeres Züchten auf alkalischen Nährböden Enterokokkencharakteristica anzuzüchten, studierte ich das biologische Verhalten der einzelnen Streptokokkentypen nach allmählichem Gewöhnen bei stark sauren und stark alkalischen Nährböden. Zu diesem Zwecke stellte ich mir Bouillonröhrchen von verschiedener ph-Jonen-konzentration dar (5,5 ph, 6,5 ph, 7,5 ph, 8,5 ph). 8,5 ph war nur ein ungenauer Wert, da bei dieser Alkalität eine genaue Einstellung nicht mehr möglich war. Ich suchte durch wochenlanges, tägliches Überimpfen die Kulturen in den einzelnen ph-Abstufungen zu gleich starkem Wachstum zu bringen. Besonders schwierig war dies bei den stärker sauer eingestellten Nährböden. Bei Prüfung des Aeskulinspaltungvermögens und der Galleresistenz wurde, nachdem gleich ein starkes Wachstum erreicht war, die entsprechende Menge Na-taurocholicum bezw. Aeskulin zugesetzt und dann in den Brutschrank gestellt.

Ich fand, daß die Aeskulinprobe bei stärker sauer eingestellter Bouillon immer schwächer wurde, um bei einer ph-Jonenkonzentration von 5,5 ph vollständig zu schwinden oder nur eine ganz geringe Reaktion zu zeitigen (s. Tabelle IV). Umgekehrt ließen Rachenstreptokokken, die bei gewöhnlicher 7,5 ph-Jonenkonzentration noch keine oder nur schwachpositive Aeskulinprobe ergeben hatten, nach längerer Zucht in 8,5 ph eine schwache bezw. stärker positive Probe erkennen. Die Rachenstreptokokken, die immer bei 7,5 ph eine Schwarzfärbung des Aeskulinnährbodens ergeben hatten, verloren schneller in weniger sauer eingestellten Nährböden die Fähigkeit, Aeskulin zu spalten als die Enterokokken und Milchsäurestreptokokken.

Ähnlich wie bei der Aeskulinprobe verhielt es sich bei der Galleresistenz. Auch hier zeigte es sich, daß in den meisten Fällen bei höherer Säurekonzentration die Bacterien in ihrem Wachstum gehemmt und geschädigt wurden, um bei 5,5 ph ihre Galleresistenz vollständig einzubüßen.

Anders verhielt es sich bei der Thermostabilität. Hier gelang es nur in wenigen Fällen, die Hitzebeständigkeit der Kokken durch Züchtung auf stärker sauer eingestellten Nährböden zum Schwinden zu bringen.

Diese Ergebnisse zeitigten (s. Tabelle IV) 6 zur Prüfung herangezogene Enterokokkenstämme, von denen 5 aus dem Blinddarm und 1 aus dem Urin gezüchtet war, ferner 5 Milchsäurestreptokokken, die sämtlich aus Yoghurtmilch und 5 Rachenstreptokokken, die sämtlich aus Rachenabstrichen gezüchtet waren.

Zur weiteren Identifizierung der einzelnen Streptokokken arten prüfte ich, wie Hölling und Sperling, die Säureverhältnisse der einzelnen Streptokokkenarten und bediente mich dabei der modifizierten Methode, die K. W. Jötten in seiner Arbeit: „Vergleichende Untersuchungen zwischen dem Vaginalbacillus Döderleins und dem Bacillus acidophilus des Säuglingsdarms“ angegeben hat.

Kolben mit 200 ccm 1 % Milchzuckerbouillon wurden mit Rachenstreptokokken, Milchsäurestreptokokken und Enterokokken beimpft und zugleich mit unbeimpften Kontrollkolben 10 Tage bei 37 ° bebrütet. Zunächst wurde nun die Gesamtsäurung festgestellt, indem wir 20 ccm den einzelnen Kolben entnahmen und mit n/10 Natronlauge und Phenolphtallein als Indikator titrierten. Sodann wurden die übrig gebliebenen 180 ccm Bouillon mit Phosphorsäure schwach angesäuert und im Wasserdampfstrom die flüchtigen Säuren abdestilliert. Zur Destillation im Wasserdampfstrom benutzten wir Kolben mit Kuppelaufsatz, da hierdurch ein Überkochen der Bouillonkultur in das Auffanggefäß für die flüchtigen Säuren vermieden wurde. Es wurde 2¹/2 Stunde bis zur Destillatmenge 600 abdestilliert. Die Enterokokken bildeten immer sehr große Mengen flüchtiger Säuren. Die von den flüchtigen Säuren befreite Bouillon wurde dann eingedampft bis sie in den Perforator paßte und im Perforator 12—14 Stunden lang mit Aether extrahiert wurde. Der Aether war eine Spur gelblich gefärbt. Er wurde zum Teil wieder überdestilliert und der restierende Teil mit Glaubersalz versetzt und über Nacht zum Trocknen hingesetzt. Der Rückstand stellte eine gelblich sirupöse Masse dar. Dieser wurde mit Wasser auf 30 ccm aufgefüllt und 10 ccm mit n/10 Natronlauge zwecks Feststellung der in ihr enthaltenen Säure titriert. Um die darin enthaltene Milchsäure festzustellen, wurden die restlichen 20 ccm in Kolben mit 1—2 gr Zinkkarbonat versetzt und 5 Min. lang gekocht. Zur Entfärbung wurde dann noch 1 gr Tierkohle zugesetzt und heiß filtriert. Das erste Filtrat wurde nach Abkühlung polarisiert. Die Polarisation ergab in allen Fällen eine Rechtsdrehung. Der Kontrollkolben ergab auch eine geringe Rechtsdrehung. Es war also eine geringe Menge Rechtsmilchsäure in den unbeimpften Kolben vorhanden.

Das Filtrat wurde mit kleinen Mengen Wasser ausgewaschen und sodann in einer kleinen Porzellanschale auf dem Wasserbad bis zu 1—2 ccm eingedampft. Nach Reinigung mit Alkohol und Aether wurde der Rückstand in eine gewogene Porzellanschale übergeführt und wiederum bis zu 1 ccm eingedampft. Sodann wurde er 24 Stunden bei Zimmertemperatur und 12 Stunden im Exsiccator getrocknet und bis zur Gewichtskonstanz gewogen. Zur Bestimmung des Kristallwassergehaltes wurde der Rückstand 2 Stunden lang bei 110 ° getrocknet. Um reines Zinkoxyd zu erhalten, wurde der Rückstand weiterhin vollständig ausgeglüht und nach Erkalten mit 2—3 Tropfen 20 prozentiger Salzsäure oxidiert. Die Salpetersäure wurde vorsichtig abgeraucht und geglüht bis der Zinkoxydrückstand die typische gelbliche Farbe angenommen hatte. Nach Abkühlung färbte sich der Rückstand wieder weiß, wurde gewogen und prozentual berechnet.

Wie schon oben erwähnt und wie aus der Tabelle V hervorgeht, wurde von sämtlichen Streptokokkenstämmen aktive Milchsäure und zwar, wie die Polarisation ergab, Rechtsmilchsäure gebildet. Auch der Kontrollkolben bildete Rechtsmilchsäure, die aber wegen ihrer geringen Menge kaum in Betracht kam.

Nach Abderhalden enthält das Zinklaktat der optisch inaktiven Milchsäure (C3 H5 O3) 2 Zn + 3 H_2O = 18,18 % Wasser und 27,27 % ZnO. Das Zinklaktat der optisch aktiven Säuren (C3 H5 O3) 2 Zn + 2 H_2O = 12,9 % Wasser und 29 % ZnO. Die getrockneten Zinklaktatrückstände der Streptokokkenkulturen

ergaben bezügl. ihres Kristallwassergehalts alle Werte, die ungefähr 12,9 % der Zinklaktate entsprachen. Ferner betrug der Zinkoxydgehalt ungefähr 29 %. Der Kontrollkolben, der auch etwas Rechtsmilchsäure gebildet hatte, ergab 10,29 % Kristallwasser und 33,9 % ZnO. Es ergaben also nur die Streptokokkenkulturen Werte, die den von Abderhalden angegebenen entsprachen.

Zusammenfassung

Der Enterokokkus und Streptokokkus lacticus verhalten sich bezüglich ihrer bacteriologischen und chemisch-biologischen Eigenschaften so gut wie gleich.

Die von mehreren Autoren angegebenen charakteristischen Eigenschaften der Enterokokken sind nicht spezifisch. Viele Milchsäure- und Rachenstreptokokken verhalten sich ebenso.

Die von Kurt Meyer für die Enterokokkendifferenzierung besonders propagierte Aeskulinprobe hängt in ihrem Ausfall weitgehend ab von der Reaktion des Nährbodens, auf dem die Kokken gewachsen sind. Sie ist außerdem zur Identifizierung der Enterokokken nicht spezifisch genug.

Enterokokken, Lacticusstreptokokken und Rachenstreptokokken bilden sämtlich Rechtsmilchsäure.

In Übereinstimmung mit Gundel ist somit eine Grenze zwischen Enterokokkus und Streptokokkus lacticus nicht zu ziehen, welche Ansicht Kruse seit jeher vertreten hat.

Es ist mir eine ehrenvolle Pflicht, Herrn Prof. Dr. K. W. Jötten für die Überlassung des Themas und für die Anregungen, die ich von ihm erhalten habe, zu danken.

Zu besonderem Danke bin ich auch Herrn Prof. Dr. Pfannenstiel, Marburg, — früher am Hygienischen Institut Münster — verpflichtet, der mich bei der Durchführung meiner Versuche mit seinem Rat unterstützt hat.

Literatur-Verzeichnis.

1.) Andrewes und Horder: Lancet, 1906, Vol. 7, 1910, S.
2.) Bagger: Undersegelser over Enterokokker, Kopenhagen 1925; — Journal of Path. and Bact. Vol. 29, 1926, S. 225.
3.) Bitter und Buchholz: Centralbl. f. Bact. Abt. I. Orig.-Bd. 99, 1926, S. 289.
4.) Buchholz: Jahrbuch für Kinderheilkunde, Bd. 74, 1929, S. 351.
5.) Dible: Journal of Path. and Bact. Vol. 95, 1922, S. 3.
6.) Escherich: Jahrbuch f. Kinderheilkunde, Bd. 49, 1899, S. 187.
7.) Grossmann: Centralbl. f. Bact. Abt. I. Orig.-Bd. 110, 1929, Beiheft 5, S. 24.
8.) Günther und Thierfelder: citiert nach Kruse: Centralblatt f. Bact. Abt. I. Orig.-Bd. 34, 1903, S. 736.
9.) Gundel: Centralbl. f. Bact. Abt. I. Orig.-Bd. 99, 1926, S. 470; — Bd. 110, 1929, S. 44/46; — Bd. 118, 1930, S. 68/74.
10.) Gundel und Witebsky: Zeitschr. f. Immunforschung. Bd. 66, 1930, S. 45/58.
11.) Harrison und Vanderleck: Centralbl. f. Bact. Abt. I. Orig.-Bd. 22, 1919, S. 547.
12.) Hirsch: Centralbl. f. Bact. Abt. I. Orig.-Bd. 22, 1897, S. 369.
13.) Hölling: Inauguraldissertation, 1904, Bonn. Das Verhältnis der Milchsäurebacterien zum Streptokokkus lanceolatus (Pneumokokkus, Enterokokkus).
14.) Houston und Mc. Cloy: Lancet. 1916, Vol. II, S. 632.
15.) Jötten, K. W.: Archiv f. Hygiene. Bd. 91, 1922, S. 122.
16.) Kruse: Centralbl. f. Bact. Abt. I. Orig.-Bd. 34, 1903, S. 738. — Allgemeine Mikrobiologie. Kap. VI, § 97, S. 85/86, Leipzig 1910.
17.) Kwasniewsky und Henning: Klin. Woch. 1926, Nr. 40, S. 1870.
18.) Libmann: Centralbl. f. Bact. Abt. I. Orig.-Bd. 12, 1897, S. 376.
19.) Logan: Journ. of Path. and Bact. Vol. 18, 1914, S. 527.
20.) Meyer, Kurt: Klin. Woch. 1924, Nr. 50, S. 2291. — Centralbl. f. Bact. Abt. I. Orig.-Bd. 118, 1930, S. 75/76.
21.) Meyer, Kutr und Schönfeld, Herta: Centralbl. f. Bact. Abt. I. Orig.-Bd. 99, S. 409. — Bd. 109, 1928, S. 350.
22.) Morin, Caudiére et Certonciny: Compt. rend. Soc. de Biol. T 90, 1924, S. 1268.

23.) Rochaix: Compt. rend. Soc. de Biol. T 90, 1924, S. 771.
24.) Schmitz: Centralbl. f. Bact. Abt. I. Orig.-Bd. 67, 1913, S. 51.
25.) Schönfeld, Herta: Centralbl. f. Bact. Abt. I. Orig.-Bd. 99, 1926, S. 393.
26.) Schottmüller: Münch. med. Woch. 1903, 50. Jahrg. Nr. 21/22, S. 849/909.
27.) Sperling: Inaug.-Dissertation, 1922, Leipzig. Der Streptokokkus lacticus in seiner Beziehung zur Zahnkaries.
28.) Thiercelin, Compt. rend. Soc. de Biol. T 51, 1899, S. 261.
29.) Weissenbach, Compt. rend. Soc. de Biol. T. 81, 1918, S. 559 und 819.
30.) Wirth, Centralbl. f. Bact. Abt. I. Orig.-Bd. 99, 1926, S. 289.

Lebenslauf

Am 22. August 1905 wurde ich als Sohn des Konrektors Kaspar Asshoff zu Müschede, Kreis Arnsberg, geboren. Auf dem humanistischen Gymnasium zu Werl, Kreis Soest, erwarb ich 1925 das Reifezeugnis. Vom S. S. 1925 ab studierte ich teils an der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster, teils an der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin Medizin. Die medizinische Vorprüfung bestand ich am 6. Aug. 1927 an der Westf. Wilhelms-Universität zu Münster. Darauf studierte ich 2 Semester lang in Innsbruck, um am 23. März 1931 an der Westf. Wilhelms-Universität zu Münster das medizinische Staatsexamen mit dem Prädikat „gut" zu bestehen.

Vom 15. April 1931 bis zum 15. Oktober 1931 war ich als Medizinalpraktikant auf der inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses in Hamm tätig. Seit dem 15. Oktober 1931 bin ich als Medizinalpraktikant auf der chirurgischen Abteilung des Kath. Krankenhauses zu Hagen-Haspe.

Enterrokokken

Tabelle I

Nr.	Herkunft	Hämolyse	Verfärbung der Blutplatte	Eigenfarbe der Kolonien	Bouillontrübung	Aeskulinprobe	Galleresistenz	Thermoresistenz
1	Blinddarm	anhämolystisch	Vergrünend	Kl. grauweiße Kolonien	Diffuse Trübung	positiv	positiv	positiv
2	„	„	„	„	„	„	„	„
3	„	„	„	„	„	„	„	„
4	„	„	„	„	„	„	„	„
5	„	„	„	Dicke, saftige Kolonien	„ c)	„ a)	negativ	Wachstum wenig. Kolon.
6	Urin	„	„	„	Kuppe	„ b)	positiv	positiv
7	Blinddarm	„	„	Kl. grauweiße Kolonien	Diffuse Trübung	„	„	„
8	„	„	„	„	„	„	„	„
9	„	„	„	„	„	„	„	„
10	„	„	Stark vergrün.	„	„ c)	„ a)	negativ	negativ
11	Urin	„	Vergrünend	Dicke, saftige Kolonien	„	„ b)	positiv	Wachstum wenig. Kolon.
12	Blinddarm	„	„	Kl. grauweiße Kolonien	„	„	„	positiv
13	Urin	„	„	„	„	„ b)	negativ	negativ
14	Blinddarm	„	„	„	„	„	positiv	positiv
15	„	„	Stark vergrün.	„	„	„	„	„
16	„	„	Vergrünend	„	„	„	„	„
17	„	„	„	„	„	„	„	„
18	„	„	„	„	„ c)	„ a)	Wachstum wenig. Kolon.	negativ
19	„	„	„	„	„	„	positiv	positiv
20	„	„	„	„	„	„	„	„
21	„	„	„	„	„	„	„	„
22	„	„	„	„	„	„	„	„
23	„	„	„	Dicke, saftige Kolonien	„ c)	„ a)	„	„ e)
24	„	„	„	Kl. grauweiße Kolonien	„	„	„	„
25	„	„	„	„	„ c)	„ a)	Wachstum wenig. Kolon.	negativ
26	„	„	„	„	„	„	positiv	positiv
57	„	„	„	„	„	„	„	„
28	„	„	„	„	„	„	„	„
29	„	„	„	„	„ d)	„ a)	„	„
30	„	„	„	„	„	„	„	„
31	„	„	„	„	„	„	„	„
32	„	„	„	„	„	„	„	„
33	„	„	„	„	„	„	„	„

a) Aeskulinprobe zunächst schwach, nach längerem Züchten auf feuchten Blutplatten stark positiv.
b) Aeskulinprobe zunächst negativ, nach längerem Züchten auf feuchten Blutplatten positiv.
c) Zunächst Kuppe, nach längerem Züchten auf feuchten Blutplatten diffuse Trübung.
d) Zunächst Kuppe, nach längerem Züchten auf feuchten Blutplatten geringe diffuse Trübung.
e) Zunächst geringes Wachstum, nach längerem Züchten auf feuchten Blutplatten Vermehrung der Kolonien.

Rachenstreptokokken

Tabelle II

Nr.	Herkunft	Hämolyse	Verfärbung d. Blutplatte	Eigenfarbe der Kolonien	Bouillontrübung	Aeskulinprobe	Galleresistenz	Thermoresistenz
1	Rachenabstrich	Anhämolytisch	Vergrünend	kl. grauweiße Kolonien	geringe diffuse Trübung	positiv a)	positiv d)	negativ
2	„	„	„	kl. tautropfenart. Kolonien	Kuppe	„ a)	„ d)	„
3	„	„	„	kl. grauweiße Kolonien	diffuse Trübung	„	„	positiv
4	„	„	„	„	Kuppe	„ b)	negativ	negativ
5	„	„	„	„	„	„ c)	„	„
6	„	„	„	„	„	„ c)	„	„
7	„	„	„	feine glasige Kolonien	„	negativ	„	„
8	„	„	„	„	„	„	„	„
9	„	„	„	dicke saftige Kolonien	„	positiv c)	„	„
10	„	„	„	feine glasige Kolonien	„	negativ	„	„
11	„	„	„	„	„	„	„	„
12	„	„	„	„	„	„	„	„
13	„	„	„	„	„	„	„	„
14	„	„	„	„	„	„	„	„
15	„	„	„	tautropfenartig. Kolonien	„	positiv c)	„	„
16	„	„	„	feine glasige Kolonien	„	„ c)	„	„
17	„	„	„	„	„	negativ	„	„
18	„	„	„	„	„	„	„	„
19	„	„	„	„	„	„	„	„
20	„	„	„	„	„	„	„	„
21	„	„	„	„	„	„	„	„
22	„	„	„	„	„	„	„	„
23	„	„	„	dicke saftige Kolonien	„	positiv c)	„	„
24	„	„	„	feine glasige Kolonien	„	negativ	„	„
25	„	„	„	„	„	„	„	„
26	„	„	„	dicke saft. grauw. Kolon.	diffuse Trübung	positiv	positiv	positiv
27	„	„	„	„	Kuppe	„ c)	negativ	negativ
28	„	„	„	feine glasige Kolonien	„	negativ	„	„
29	„	„	„	„	„	„	„	„
30	„	„	„	„	„	„	„	„
31	„	„	„	tautropfenartige Kolonien	„	positiv c)	„	„
32	„	„	„	feine glasige Kolonien	„	negativ	„	„
33	„	„	„	dicke saftige Kolonien	ger. diff. verteilte Trübung	positiv a)	positiv d)	„
34	„	„	„	feine glasige Kolonien	Kuppe	negativ	negativ	„
35	„	„	„	„	„	„	„	„
36	„	„	„	kl. grauweiße Kolonien	„	positiv c)	„	„
37	„	„	„	„	„	„ b)	„	„
38	„	„	„	„	„	„ b)	„	„
39	„	„	„	feine glasige Kolonien	diffuse Trübung	„	„	„
1	Ohrsekret	Hämolytisch	–	kleine glasige Kolonien	ger. diff. verteilte Trübung	positiv	positiv	negativ

a) Aeskulinprobe zunächst schwach, mit Ferricitratzusatz 24 Std. im Brutschrank positiv.
b) Aeskulinprobe zunächst negativ, mit Ferricitratzusatz 24 Std. im Brutschrank positiv.
c) Aeskulinprobe zunächst negativ, nach längerer Weiterzucht auf feuchten Blutplatten und darauf mit Ferricitratzusatz 24 Std. im Brutschrank positiv.
d) Erst nach längerem Züchten auf feuchten Blutplatten Wachstum von Kolonien.

Milchsäurestreptokokken

Tabelle III

Nr.	Herkunft	Hämolye	Verfärbung der Blutplatte	Eigenfarbe der Kolonien	Boullion-trübung	Aeskulin-probe	Galle-resistenz	Thermo-resistenz
1	Yoghurt Milch	anhämo-lytisch	schwarz-grüne Ver-färbung	dicke, saftige, grauweiße Kolonien	diffuse Trübung	positiv a)	positiv	positiv
2	„	„	„	kleine, grau-weiße Kolonien	„	„	negativ	negativ
3	„	„	„	dicke, vollsaf-tige Kolonien	„	„ a)	positiv	positiv
4	Saure Milch	„	„	„	„	„ a)	„	„
5	„	„	„	kleine grau-weiße Kolonien	„	„	„ c]	negativ
6	„	„	„	dicke, vollsaf-tige Kolonien	„	„ a)	„ c)	positiv
7	Yoghurt Milch	„	„	kleine, grau-weiße Kolonien	zunächst geringe, später starke diffuse Trübung	„ b)	negativ	negativ
8	„	„	„	dicke. vollsaf-tige Kolonien	diffuse Trübung	„	positiv c)	positiv d)
9	„	„	„	„	„	„ a)	„	„
10	„	„	„	kleine, grau-weiße Kolonien	zunächst geringe, später starke diffuse Trübung	„ b)	negativ	negativ
11	„	„	„	dicke, vollsaf-tige Kolonien	diffuse Trübung	„	positiv c]	positiv d)
12	„	„	„	kleine, grau-weiße Kolonien	„	„	„ c)	„
13	„	„	„	dicke, vollsaf-tige Kolonien	„	„ a)	„	„
14	„	„	„	kleine, grau-weiße Kolonien	„	„ a)	„ c)	„
15	„	„	„	„	„	„	negativ	negativ

a) Nach der 1. Ueberimpfung stark positive Aeskulinprobe.

b) Schwach positive, mit Ferricitratzusatz stark positive Aeskulinprobe.

c) Durch allmähliches Gewöhnen an taurochol-saures Natrium: Wachstum von Kolonien.

d) Nach längerem Züchten auf feuchten Blutplatten und wiederholter Thermoresistenzprobe: Wachstum weniger Kolonien.

Prüfung der Aeskulinprobe, Galle- und Thermoresistenz bei verschiedener Ph-Einstellung. Tabelle IV

Nr.	Herkunft	Aeskulinprobe				Halbresistenzprobe				Thermoresistenzprobe			
		55.Ph	6,5 Ph.	7,5 Ph.	8,5 Ph.	5,5 Ph.	6.5 Ph.	7,5 Ph.	8,5 Ph.	5,5 Ph.	6,5 Ph.	7,5 Ph.	8,5 Ph.
Enterokokkus 1.	Blinddarm	0	+	+++	+++	Kein Wachstum	Wenig Wachst.	Mäßig dichtes Wachstum	Dicht. Wachstum	Dicht. Wachstum	Dicht. Wachstum	Dicht. Wachstum	Dicht. Wachstum
Milchsäurestreptokokkus 1.	Yoghurt-Milch	0	+	++	+++	„	„	„	„	„	„	„	„
Gachenstreptokokkus 3.	Rachenabstrich	0	+	++	+++	„	„	Dicht. Wachstum	„	„	„	„	„
Enterokokkus 11.	Urin	0	+	+	++	„	Kein Wachstum	sehr ger. Wachst.	„	Kein Wachstum	schwach Wachst.	„	„
Enterokokkus 2	Blinddarm	+	++	+++	++++	Wenig Wachst.	Dicht. Wachstum	Dicht. Wachstum	„	Dicht. Wachstum	Dicht. Wachstum	„	„
Milchsäurestreptokokkus 3.	Yoghurt-Milch	+	++	+++	++++	Mäßig dichtes Wachstum	„	„	„	„	„	„	„
Rachenstreptokokkus 6.	Rachenabstrich	0	0	0	+	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum
„	„	0	+	++	+++	2. Probe nach Ueberbrütung mit Ferricitratzusatz							
Enterokokkus 3.	Blinddarm	+	++	+++	++++	Wenig Wachst.	Wenig Wachst.	Dicht. Wachstum	Dicht. Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Wenig Wachst.	Wenig Wachst.
Mitchsäurestreptokokkus 9.	Yoghurt-Milch	0	++	++++	++++	Dicht. Wachstum	Dicht. Wachstum	„	„	Dicht. Wachstum	Dicht. Wachstum	Dicht. Wachstum	Dicht. Wachstum
Rachenstreptokokkus 2.	Rachenabstrich	0	+	++	++	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum
Enterokokkus 4.	Blinddarm	+	++	+++	++++	Dicht. Wachstum	Dicht. Wachstum	Dicht. Wachstum	Dicht. Wachstum	Dicht. Wachstum	Dicht. Wachstum	Dicht. Wachstum	Dicht. Wachstum
Milchsäurestreptokokkus 13.	Yoghurt-Milch	0	++	+++	++++	Wenig Wachst.	Wenig Wachst.	„	„	Mäßig dichtes Wachstum	„	„	„
Rachenstreptokokkus 7.	Rachenabstrich	0	0	0	+	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Mäßig dichtes Wachstum	Mäßig dichtes Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum
Enterokokkus 8.	Blinddarm	+	++	+++	++++	„	„	Dicht. Wachstum	Dicht. Wachstum	Mäßig dichtes Wachstum	Dicht. Wachstum	Dicht. Wachstum	Dicht. Wachstum
Milchsäurestreptokokkus 10.	Yoghurt-Milch	0	+	+	+++	„	„	Wenig Wachst.	Wenig Wachst.	Dicht. Wachstum	„	„	„
Rachenstreptokokkus 9.	Rachenabstrich	0	+	++	+++	„	„	„	„	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum

Wiederholung der ersten 4 Aeskulinproben bei verschiedener Ph-Einstellung 2 Monate später nach Weiterzucht auf feuchten Blutplatten.

Enterokokkus 1.	Blinddarm	+	+++	+++	++++
Milchsäurestreptokokkus 1	Yoghurt-Milch	+	+++	++++	++++
Rachenstreptokokkus 3	Rachenabstrich	0	+	+++	++++
Enterokokkus 11	Urin	0	+	+++	++++

Quantitativer und qualitativer Säurenachweis

Tabelle V

in je 200 ccm 1%iger Milchzuckerbouillon nach 12 Tagen Brutschrankaufenthalt.

Stamm Nr.	Säurebildung in 10 ccm	Flüchtige Säure in 190 ccm	Säuerung im Extrakt	Zinklaktat in gr.	Bei 110° C getrocknet in gr.	Kristallwasser in %	Glührückstand zu 0 in gr.	Zu 0 %	Polarisation
Milchsäurestreptokokkus 1.	1,7	28	9,1	0,1342	0,1152	12,01	0,0377	28,10	—2,22
Enterokokkus 1.	1,8	57,3	7,5	0,1619	0,1387	12,69	0,0480	29,64	—3,63
Rachenstreptokokkus 1.	1,9	38,6	12,5	0,2441	0,2138	13,28	0,0728	29,86	—2,24
Milchsäurestreptokokkus 2.	1,2	29	6,4	0,0618	0,0534	12,42	0,0186	29,09	—2,13
Enterokokkus 2.	2,2	53,5	13,4	0,1475	0,1265	13,60	0,465	29,01	—1,32
Rachenstreptokokkus 2.	1,8	33	11,5	0,0754	0,0648	12,73	0,0239	29,70	—2,18
Kontrollkolben ohne Bakterien	0,6	22,5	12,5	0,1449	0,1300	10,29	0,0492	33,90	—0,02